

Unterschiede der Plasmaproteinbindung  
von Arzneimitteln bei Neugeborenen  
und Erwachsenen

Konrad Müller

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554616\\_0045](https://archive.org/details/IA41554616_0045)



Aus dem Walther-Straub-Institut für Pharmakologie  
und Toxikologie der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. W. Forth

**Unterschiede der Plasmaproteinbindung von Arzneimitteln  
bei Neugeborenen und Erwachsenen**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig- Maximilians- Universität zu München

vorgelegt von

Konrad Müller

aus

Übersfeld, Kreis Donau- Ries

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. H. Kurz  
Mitberichterstatter : Prof. Dr. W. Forth  
Dekan : Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 17. 12. 1987

In Dankbarkeit

meiner Frau Jutta

und

meinen Eltern

gewidmet



## Inhaltsverzeichnis

|                                                                                 | Seite |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------|
| I) Problemstellung                                                              | 2     |
| II) Methodik                                                                    | 4     |
| 1) Gewinnung des Plasmas                                                        | 4     |
| a) von Neugeborenen                                                             | 4     |
| b) von Erwachsenen                                                              | 4     |
| 2) Substanzen und Nachweismethoden                                              | 5     |
| 3) Bestimmung der Bindung durch Gleichgewichtsdialyse                           | 7     |
| 4) Berechnung der Bindung                                                       | 9     |
| 5) Bestimmung von Gesamteiweiß und Bilirubin im Plasma                          | 11    |
| 6) Statistische Auswertung                                                      | 12    |
| III) Ergebnisse                                                                 | 14    |
| 1) Ergebnisse der Plasmaproteinbindung                                          | 14    |
| 2) Beziehung zwischen der Bindung an Neugeborenen- und Erwachsenenplasma        | 15    |
| 3) Vergleich der freien Pharmakonanteile im Neugeborenen- und Erwachsenenplasma | 15    |
| 4) Ergebnisse von Gesamteiweiß, Elektrophorese und Bilirubin                    | 18    |
| IV) Diskussion                                                                  | 19    |
| 1) Kritik der Methode                                                           | 19    |
| a) Plasmaproben                                                                 | 19    |
| b) Gleichgewichtsdialyse                                                        | 21    |
| 2) Einfluß der Proteinkonzentration auf die Bindung                             | 24    |
| 3) Einfluß der Bilirubinkonzentration auf die Bindung                           | 27    |
| 4) Diskussion der Ergebnisse                                                    | 29    |
| 5) Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren                                | 32    |
| 6) Schlußfolgerungen aus den Ergebnissen                                        | 36    |
| V) Zusammenfassung                                                              | 40    |
| VI) Literaturverzeichnis                                                        | 41    |



## I) Problemstellung

Für die klinische Praxis stehen bei der Verabreichung eines Arzneimittels immer die Fragen nach der Wirksamkeit und der richtigen Dosierung im Vordergrund. Um diese Fragen aber befriedigend beantworten zu können, sind vorher ausführliche Grundlagenstudien für die Basisinformation notwendig, da ein appliziertes Pharmakon im Organismus noch zusätzlich den verschiedenartigsten Einflüssen unterliegt.

Neben der Bindung und Speicherung in den verschiedenen Geweben und Organen, was in den letzten Jahren mehrfach untersucht worden ist (Kurz and Fichtl 1983, Schuhmann 1985), spielt die Bindung an die Plasmaproteine eine sehr wichtige Rolle für die Verteilung, den Metabolismus und die Ausscheidung von Pharmaka (Kurz 1978, Rowland and Tozer 1980).

Aufgrund ihrer zentralen Stellung im Organismus waren die Plasmaproteine schon frühzeitig zum Gegenstand pharmakologischer Studien geworden (Bennhold 1932, Davis 1942, Gilligan 1943). Über die 1932 von Bennhold aufgezeigte Vehikelfunktion hinaus konnten in den letzten Jahren sowohl quantitative als auch qualitative Unterschiede in der Arzneimittelbindung durch die Plasmaproteine nachgewiesen werden.

Ganshorn und Kurz (1968) konnten für eine ganze Reihe von Pharmaka zeigen, daß im Neugeborenenplasma eine geringere Proteinbindung vorliegt als im Erwachsenenplasma. Diese Ergebnisse wurden anschließend von Chignell et al. (1971), Ehrnebo et al. (1971), Mather et al. (1971), Pruitt and Dayton (1971) bestätigt.

Aufgabe und Ziel dieser Arbeit war es, für eine Anzahl weiterer wichtiger Arzneimittel, die bisher noch nicht nach derselben Methode wie in der Ganshorn-Studie (1968) untersucht worden sind, ebenfalls die Proteinbindung an Neugeborenen- bzw. Erwachsenenplasma zu bestimmen, Unterschiede darzustellen und die Ergebnisse mit der Literatur zu vergleichen.

Die sechs ausgewählten Pharmaka - Phenytoin, Warfarin, Chlorpromazin, Diazepam, Imipramin und Propranolol - repräsentieren ein breites Spektrum physiko- chemischer Eigenschaften (Ionisationsgrad, Säure- Basen-Charakter, Lipidlöslichkeit) und sind aufgrund ihrer Placentagängigkeit auch von klinischem Interesse, da ein Teil von ihnen bei der entsprechenden Indikation auch während der Schwangerschaft zum regelmäßigen Einsatz kommt.

## II) Methodik

### 1) Gewinnung des Plasmas

#### a) von Neugeborenen

Das Neugeborenenblut wurde bei sieben Spontangeburtun unmittelbar nach Abnabelung des Kindes und noch vor Lösen der Plazenta aus der Nabelschnur gewonnen. Pro Nabelschnur erhielt man ca. 20 - 75 ml Blut.

Bereits während der Entnahme wurde das Neugeborenenblut durch den Zusatz von je 2 ml 33 % iger Natriumcitratlösung pro 100 ml Blut ungerinnbar gemacht. Nach halbstündigem Stehen im Kühlschrank wurde das Plasma scharf abzentrifugiert und bei - 32 °C eingefroren. Vor der Portionierung für die einzelnen Versuche wurden die sieben Plasmaproben gepoolt, um miteinander nicht vergleichbare Meßergebnisse aufgrund der individuellen Schwankungen zu vermeiden.

Die Mütter waren alle gesund und hatten in den letzten Tagen vor der Entbindung außer Eisenpräparaten keinerlei Medikamente eingenommen.

Die neugeborenen Kinder waren ebenfalls alle voll lebensfähig und gesund; sie wurden alle zwischen der 39. und 41. Schwangerschaftswoche geboren.

#### b) von Erwachsenen

Von fünf gesunden Spendern, die bis zu 48 Stunden vor der Entnahme keinerlei Medikamente eingenommen hatten, wurden je-

weils 10 ml Blut entnommen. Es wurde ebenfalls - wie oben beschrieben - ungerinnbar gemacht und das Plasma abzentrifugiert. Weiter wurde das Plasma wie die Neugeborenenproben gepoolt und bis zur Weiterverarbeitung tiefgefroren. Untersuchungen von Baur et al. (1977) haben gezeigt, daß durch die Lagerung bei - 32 °C die Bindungseigenschaften des Plasmas nicht beeinträchtigt werden.

## 2) Substanzen und Nachweismethoden

Folgende Pharmaka wurden bezüglich ihrer Bindung an Neugeborenen- und Erwachsenenplasma untersucht:

| <u>Säuren:</u> | $pK_a$ | molekulare<br>Masse | Ionisationsgrad<br>in % bei pH 7,40 |
|----------------|--------|---------------------|-------------------------------------|
| Phenytoin-Na   | 8,33   | 274,3               | 10,51                               |
| Warfarin-Na    | 5,0    | 308,32              | 99,6                                |

| <u>Basen:</u>   |      |        |       |
|-----------------|------|--------|-------|
| Chlorpromazin   | 9,3  | 318,82 | 98,75 |
| Diazepam        | 3,31 | 284,76 | 0,01  |
| Imipramin       | 9,5  | 280,4  | 99,01 |
| Propranolol-HCl | 9,42 | 295,6  | 99,21 |

Die  $pK_a$  - Werte zur Berechnung der Ionisationsgrade wurden den Arbeiten von Martindale (1977) und Herzfeldt (1980) entnommen.

Alle untersuchten Substanzen waren im Dialyseansatz in einer Endkonzentration von  $1 \times 10^{-4}$  Mol/l enthalten, was ungefähr den therapeutischen Konzentrationen bei der Anwendung am Menschen entspricht (Goodman and Gilman 1980).

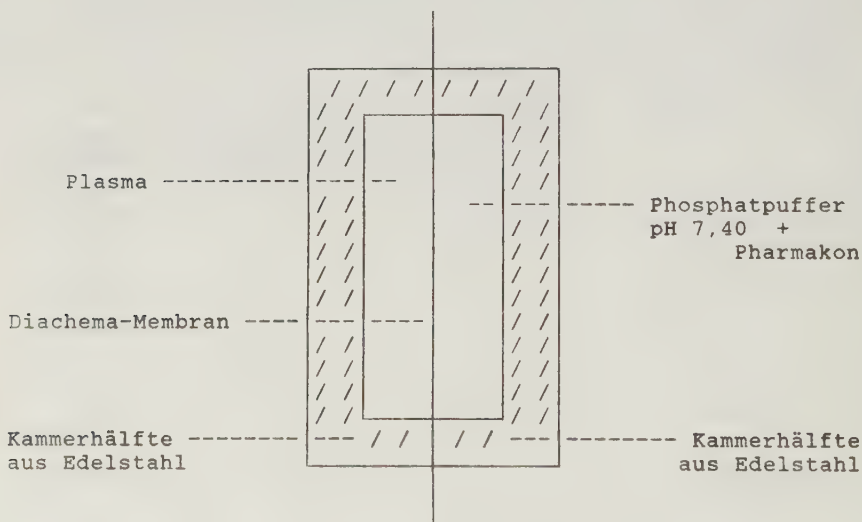
Für die radiometrische Messung des Pharmakons im Dialysat wurden der Testsubstanz jeweils 30 µl radioaktiv markiertes Pharmakon zugesetzt. Diese Menge genügte, um nach der Dialyse eine Zählrate von mindestens 1000 "counts per minute" ( cpm ) pro 200 µl Probe im Scintillationszähler zu erhalten. Die Zählzeit wurde so gewählt, daß der relative Zählfehler < 1 % war und somit kleiner war als der durchschnittliche Pipettierfehler.

|                                | spezif. Aktivität<br>(Curies/mmol) | radiochem.<br>Reinheit | Bezugs-<br>quelle |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------|
| <sup>14</sup> C - Phenytoin    | 0,047                              | 99 %                   | N.E.N.            |
| <sup>14</sup> C - Warfarin     | 0,046                              | 99 %                   | A.B.              |
| <sup>3</sup> H - Chlorpromazin | 18,5                               | 98 %                   | N.E.N.            |
| <sup>14</sup> C - Diazepam     | 0,057                              | 98 %                   | A.B.              |
| <sup>3</sup> H - Imipramin     | 24,0                               | 98 %                   | A.B.              |
| <sup>3</sup> H - Propranolol   | 20,0                               | 97 %                   | A.B.              |

Lieferfirmen: A.B. = Amersham Buchler, Braunschweig  
N.E.N. = New England Nuclear, Dreieich

### 3) Bestimmung der Bindung durch Gleichgewichtsdialyse

Zur Bestimmung der Plasmaproteinbindung von Pharmaka wurde das Prinzip der Gleichgewichtsdialyse angewandt. Dazu wurde ein Dianorm - Dialysegerät der Fa. Diachema, Langnau/ Zürich, Schweiz verwendet. Die 1 ml Dialysezellen bestanden aus V 4 A - Edelstahl. Die beiden Kammern der Dialysezelle wurden durch eine semipermeable Membran (Fa. Diachema, Rüschikon, Schweiz) mit einer durchschnittlichen Porenweite von  $1,5 - 2,0 \times 10^{-6}$  mm voneinander getrennt.



Skizze einer Dialysezelle im Querschnitt

Für jede zu untersuchende Substanz wurden je dreimal folgende Dialyseansätze in den Dialysezellen vorbereitet:

|     | <u>1. Kammer</u> |   | <u>2. Kammer</u>   |                   |
|-----|------------------|---|--------------------|-------------------|
| (1) | Plasma           | - | Puffer + Pharmakon |                   |
| (2) | Puffer           | - | " + "              |                   |
| (3) | Plasma           | - | Puffer             | (Plasma-Leerwert) |
| (4) | Puffer           | - | Puffer             | (Puffer-Leerwert) |

Der pH- Wert des Plasmas wurde nach dem langsamen Auftauen durch die Zugabe von wenigen Tropfen 1,5 molarer  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  -Lösung von ursprünglich 7,76 auf genau 7,40 eingestellt. Anschließend wurde jeweils 1 ml des Plasmas in eine Kammer der Dialysezelle pipettiert. In die zweite Kammer wurden insgesamt 1 ml von einer isotonen Phosphatpufferlösung (pH 7,40) zusammen mit einer definierten Menge des zu messenden Pharmakons gegeben. Anschließend erfolgte die Dialyse bei 4 °C über 18 Stunden (über Nacht). Frühere Kontrolluntersuchungen hatten gezeigt, daß sich schon nach 6-8 Stunden ein Verteilungsgleichgewicht eingestellt hat (Ganshorn und Kurz 1968, Schuhmann 1985).

Nach der Gleichgewichtseinstellung wurde pro Dialysenkammer jeweils 200 µl Dialysat mit 15 ml Dioxan - Szintillationsflüssigkeit versetzt, und im Packard Flüssigkeits - Szintillationszähler Tricarb Mod. 3255 die Konzentration an radioaktiv markiertem Pharmakon gemessen. Von jeder Dialysenkammer wurden zwei Proben entnommen und getrennt im Szintillationszähler ausgewertet.

# Zusammensetzung der Scintillationsflüssigkeit:

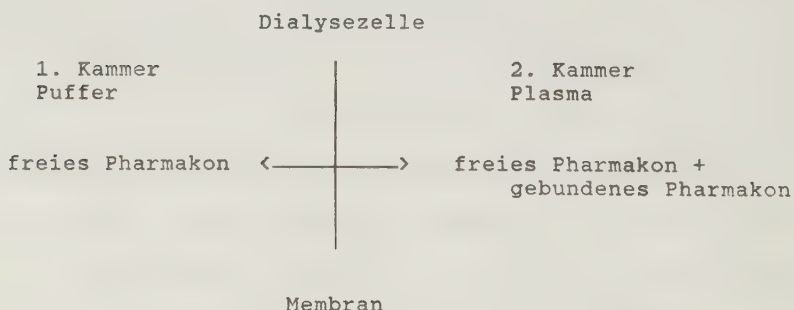
|               |            |
|---------------|------------|
| POPOP         | 1 g        |
| PPO           | 20 g       |
| Naphtalin     | 300 g      |
| Methanol      | 50 ml      |
| Äthylenglykol | 100 ml     |
| Dioxan        | ad 5000 ml |

dabei ist : POPOP = 1,4-bis-2-(Methyl-5-Phenoxazolyl)-Benzol

PPO = 2,5-Diphenyloxazol

## 4) Berechnung der Bindung

Beim Prinzip der Gleichgewichtsdialyse stellt sich zwischen der gebundenen Substanz und der frei gelösten Substanz ein Konzentrationsgleichgewicht ein.



Das freie Pharmakon diffundiert durch die Membran, bis in der proteinhaltigen und in der proteinfreien Kammerhälfte

die gleichen Konzentrationen an freiem Pharmakon ( $C_f$ ) herrschen. Dabei wird die eingesetzte Gesamtmenge auf beide Kammerhälften verteilt. Da beide Volumina gleich sind, gilt

$$C_{ges} = C_{Pl} + C_{Pu} \quad (\text{Gleichung 1})$$

dabei ist  $C_{ges}$  die Gesamtkonzentration, die vor Dialyse eingesetzt wurde,  $C_{Pl}$  die Konzentration im proteinhaltigen Plasma und  $C_{Pu}$  die Konzentration in der proteinfreien Kammerhälfte. Da sich die gebundene Substanz ( $C_b$ ) nur im proteinhaltigen Kompartiment befindet, gilt

$$C_f = C_{Pu} \quad (\text{Gleichung 2})$$

und 
$$C_{Pl} = C_f + C_b \quad (\text{Gleichung 3})$$

da die freie Konzentration  $C_f$  gleich  $C_{Pu}$  ist, ergibt sich für die gebundene Arzneimittelkonzentration

$$C_b = C_{Pl} - C_{Pu} \quad (\text{Gleichung 4})$$

Allerdings muß diese Gleichung noch um den jeweiligen Leerwert ( $C_{Pl\ 0}$  bzw.  $C_{Pu\ 0}$ ) korrigiert werden; dann gilt:

$$C_b = (C_{Pl} - C_{Pl\ 0}) - (C_{Pu} - C_{Pu\ 0}) \quad (\text{Gleichung 5})$$

Drückt man die Proteinbindung in Prozent von der Gesamtkonzentration aus, dann gilt:

$$\% B = \frac{((C_{Pl} - C_{Pl\ 0}) - (C_{Pu} - C_{Pu\ 0}))}{(C_{Pl} - C_{Pl\ 0})} \times 100$$

(Gleichung 6)

Da aber die vom Szintillationsgerät gezählten Impulse der Pharmakonkonzentration direkt proportional sind, darf man in der Gleichung (6) statt der Konzentration die vom Gerät angegebenen "decompositions per minute" (dpm) einsetzen. ( Die dpm erhält man durch Umrechnung aus den "counts per minute" (cpm), die das Scintillationsgerät gemessen hat; durch die Umrechnung soll ein "Quenchfehler" ausgeschlossen werden (Herzog 1983)).

Daraus ergibt sich dann folgende Bindungsgleichung:

$$\% B = \frac{((dpm\ C_{Pl} - dpm\ C_{Pl\ 0}) - (dpm\ C_{Pu} - dpm\ C_{Pu\ 0}))}{(dpm\ C_{Pl} - dpm\ C_{Pl\ 0})} \times 100$$

(Gleichung 7)

## 5) Bestimmung von Gesamteiweiß und Bilirubin im Plasma

Die Bestimmung von Gesamteiweiß erfolgte in der Modifikation nach Merckotest nach der Biuretmethode; Proteine und Peptide geben in alkalischer Lösung mit Kupferionen einen violetten Farbkomplex. Referenzreagenz war dabei Merckotest - Gesamteiweiß.

Zur Aufschlüsselung der Plasmaproteine in die einzelnen Proteinfraktionen wurde die Elektrophorese im Multiphorese-System der Fa. Vogel, Gießen, auf Cellulose- Acetat- Folie durchgeführt ( bei 250 V über 30 min. ). Die Färbung erfolgte mit Ponceau S, die Auswertung densometrisch mit dem Auswertegerät NR 693 der Fa. Vogel, Gießen.

Das Gesamt- Bilirubin wurde durch Kupplung mit diazotierter Sulfanilsäure nach Zusatz von Coffein bestimmt. Mit der alkalischen Fehling II - Lösung entsteht blaues Azobilirubin, das selektiv photometrisch bei 578 nm gemessen werden kann. Referenzreagenz : Merckotest - Bilirubin

#### 6) Statistische Auswertung

verwendete Geräte : Hewlett Packard HP 97

( Fa. Hewlett Packard, Berlin )

Olivetti P 60 60

( Fa. Olivetti, Frankfurt )

Die statistischen Methoden wurden nach Sachs (1978) angewendet. Zum Vergleich von Mittelwerten (  $\bar{x}$  ) diente der ungepaarte t - Test ; die Signifikanzprüfung erfolgte dabei im zweiseitigen Test und wurde als signifikant betrachtet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit ( p ) kleiner als 0,05 war.

Als Maß für die Streuung der erhaltenen Einzelwerte wurden jeweils der Mittelwert (  $\bar{x}$  ) mit der Standardabweichung ( SD ) und dem Standardfehler ( SE ) sowie der relative Variationskoeffizient ( VAR ) als Ausdruck für die pro-

zentuale Streuung um den Mittelwert angegeben.

Zur Überprüfung eines linearen Zusammenhangs zwischen zwei Gruppen von Meßwerten wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt und der Korrelationskoeffizient (  $r$  ) berechnet. Die Signifikanzprüfung des Korrelationskoeffizienten erfolgte wiederum im zweiseitigen Test.

### III) Ergebnisse

#### 1) Ergebnisse der Plasmaproteinbindung

Tabelle 1 und 2 zeigen die Bindungsergebnisse der sechs untersuchten Pharmaka an das Neugeborenen- bzw. Erwachsenen - Plasma, ausgedrückt in Prozent von der Gesamtkonzentration.

$\bar{x}$  = Mittelwert von den Einzelergebnissen ( für  $n = 3$  ),

VAR = relat. Variationskoeffizient in Prozent ( % ),

SD = Standardabweichung, SE = Standardfehler

|               | $\bar{x}$ | VAR (%) | SD         | SE         |
|---------------|-----------|---------|------------|------------|
| Phenytoin     | 88,59 %   | 2,91    | $\pm 1,71$ | $\pm 0,70$ |
| Warfarin      | 97,44 %   | 0,00    | $\pm 0,04$ | $\pm 0,02$ |
| Chlorpromazin | 84,44 %   | 2,53    | $\pm 1,59$ | $\pm 0,65$ |
| Diazepam      | 99,19 %   | 0,00    | $\pm 0,03$ | $\pm 0,02$ |
| Imipramin     | 57,13 %   | 2,10    | $\pm 1,45$ | $\pm 0,59$ |
| Propranolol   | 38,62 %   | 0,13    | $\pm 0,36$ | $\pm 0,21$ |

Tabelle 1 : Die prozentuale Bindung an das Neugeborenen - Plasma

|               | $\bar{x}$ | VAR  | (%)        | SD         | SE |
|---------------|-----------|------|------------|------------|----|
| Phenytoin     | 93,12 %   | 0,01 | $\pm 0,12$ | $\pm 0,06$ |    |
| Warfarin      | 98,38 %   | 0,05 | $\pm 0,22$ | $\pm 0,13$ |    |
| Chlorpromazin | 90,70 %   | 0,10 | $\pm 0,31$ | $\pm 0,18$ |    |
| Diazepam      | 99,14 %   | 0,01 | $\pm 0,12$ | $\pm 0,07$ |    |
| Imipramin     | 76,43 %   | 0,60 | $\pm 0,77$ | $\pm 0,45$ |    |
| Propranolol   | 59,83 %   | 1,23 | $\pm 1,10$ | $\pm 0,64$ |    |

Tabelle 2 : Die prozentuale Bindung an das Erwachsenen - Plasma

Aus den Ergebnissen von Tabelle 1 und 2 geht hervor, daß bei einer Substanzkonzentration von  $1 \times 10^{-4}$  Mol/l mit Ausnahme von Diazepam alle untersuchten Pharmaka an das Neugeborenenplasma weniger stark gebunden werden als an das Erwachsenenplasma. Für Diazepam läßt sich unter Berücksichtigung der angegebenen Streubreite feststellen, daß es in beiden Plasmaarten gleich hoch gebunden wird.

## 2) Beziehung zwischen der Bindung an Neugeborenen- und Erwachsenenplasma

Abbildung 1 zeigt, daß eine sehr gute Korrelation ( $p < 0,002$ ) zwischen der Arzneimittelbindung an Neugeborenen- und Erwachsenenplasma besteht. Der Korrelationskoeffizient ( $r$ ) ist dabei 1 für die sechs untersuchten Substanzen ( $n = 6$ ); d.h. Pharmaka, die eine hohe Bindung an Neugeborenenplasma erfahren, werden auch im Erwachsenenplasma stark gebunden, und desgleichen finden sich bei Pharmaka mit geringer Neugeborenen-Plasmabindung auch niedrige Erwachsenen-Plasmabindungswerte.

## 3) Vergleich der freien Pharmakonanteile im Neugeborenen- und Erwachsenenplasma

Abbildung 2 stellt von jedem untersuchten Arzneimittel die nach der Bindung an Neugeborenen- bzw. Erwachsenen-Plasma verbliebenen freien Anteile einander gegenüber und gibt an, ob die Unterschiede statistisch signifikant sind.

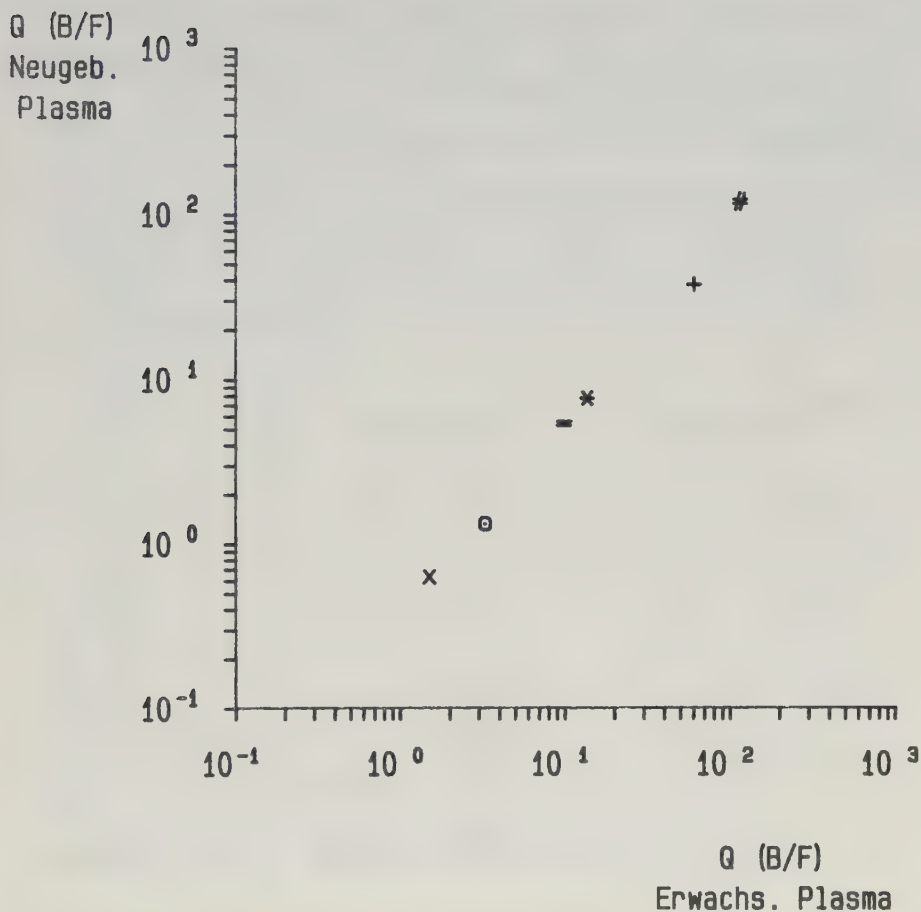


Abbildung 1 : Doppellogarithmische Darstellung der Korrelation zwischen Neugeborenen- und Erwachsenen-Plasmabindung für die sechs untersuchten Substanzen (  $r = 0,9975$  ,  $p < 0,002$  , für  $n = 6$  )

Die Bindung ist jeweils als Quotient ( Q ) aus gebundenem ( B ) und freiem ( F ) Anteil angegeben (Die Quotienten wurden aus den Ergebnissen von Tabelle 1 und 2 berechnet).

dabei stehen die Symbole für:

|             |             |                 |
|-------------|-------------|-----------------|
| * Phenytoin | + Warfarin  | = Chlorpromazin |
| # Diazepam  | o Imipramin | x Propранolol   |

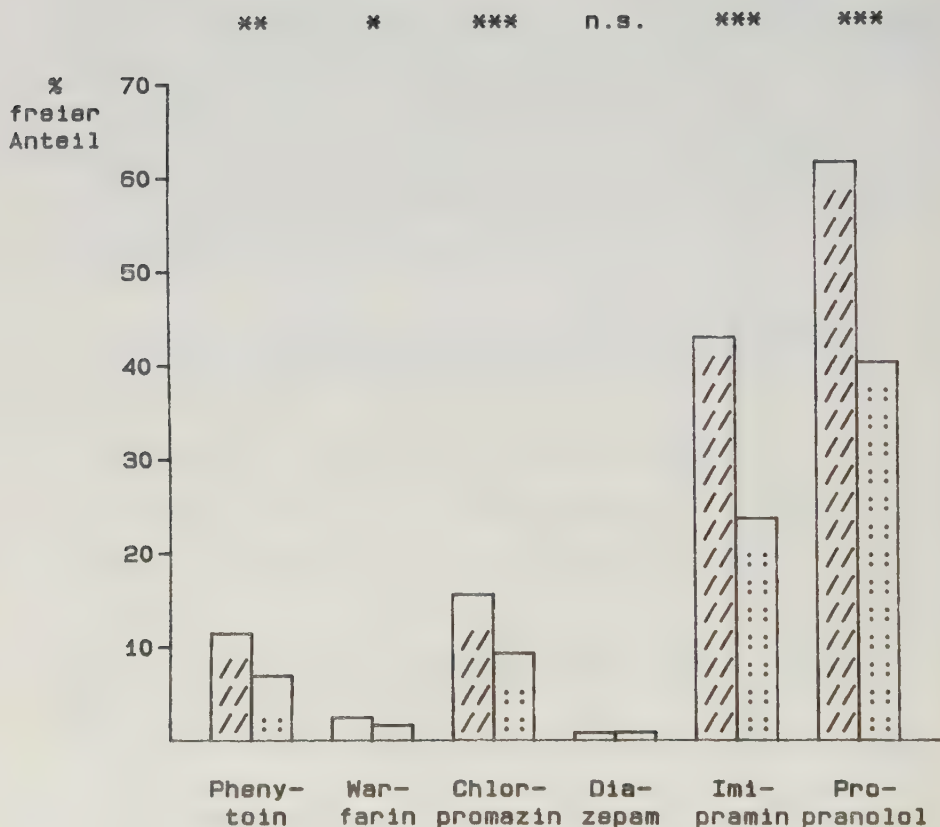


Abbildung 2 : Unterschied der freien Pharmakonanteile nach der Plasmaproteinbindung in Prozent und seine Signifikanz

\*\*\* : signifikant für  $p < 0,001$   
 \*\* : " für  $p < 0,01$   
 \* : " für  $p < 0,02$   
 n.s. : nicht signifikant

// = Neugeborenen-Plasma  
 :: = Erwachsenen-Plasma

#### 4) Ergebnisse von Gesamteiweiß, Elektrophorese und Bilirubin

Tabelle 3 stellt die Meßergebnisse vom Gesamteiweiß, von den einzelnen Proteinfractionen und vom Gesamt- Bilirubin in unseren Plasmaproben einander gegenüber. Aufgrund der niedrigen Konzentration von Gesamt- Bilirubin in beiden Gruppen wurde auf eine Differenzierung in direktes und indirektes Bilirubin verzichtet.

|                       | <u>Neugeborene</u> |            | <u>Erwachsene</u> |            |
|-----------------------|--------------------|------------|-------------------|------------|
| Gesamteiweiß          | 4,8 ( g % )        |            | 7,2 ( g % )       |            |
|                       | (g %)              | (relat. %) | (g %)             | (relat. %) |
| Albumin               | 3,18               | = 66,2     | 4,59              | = 63,8     |
| $\alpha_1$ - Globulin | 0,15               | = 3,1      | 0,19              | = 2,7      |
| $\alpha_2$ - "        | 0,30               | = 6,3      | 0,48              | = 6,6      |
| $\beta_1$ - "         | 0,30               | = 6,4      | 0,63              | = 8,8      |
| $\beta_2$ - "         | 0,28               | = 5,9      | 0,51              | = 7,1      |
| $\gamma$ - "          | 0,57               | = 11,8     | 0,77              | = 10,7     |
| Gesamt- Bilirubin     | 0,85 ( mg % )      |            | 0,61 ( mg % )     |            |

Tabelle 3 : Die Konzentration von Gesamteiweiß, die Proteinfractionen und Gesamt- Bilirubin in unserem untersuchten Neugeborenen- bzw. Erwachsenenplasma

#### IV) Diskussion

##### 1) Kritik der Methode

###### a) Plasmaproben

Für die Bindungsstudien an die Plasmaproteine von Neugeborenen wurde nur Nabelschnurblut von gesunden und am Termin geborenen Kindern (39. bis 41. Schwangerschaftswoche) verwendet, da bei Mißbildungen und Frühgeborenen veränderte Bindungseigenschaften der Plasmaproteine beobachtet worden sind.

Ebad and Kugel (1970) haben bei Kindern mit Trisomie 21 eine verminderte Plasmaproteinbindung von Salicylsäure als mögliche Folge einer begleitenden Hypalbuminämie gemessen. Frühgeborene und untergewichtige Neugeborene mit Atemnotsyndrom weisen ebenfalls einen Mangel an Albumin auf und haben eine niedrigere Plasmaproteinbindung als zum Termin geborene Kinder ( Krasner et al. 1973 ).

Krauer et al. (1986) fanden im Serum des Foeten in der Frühschwangerschaft hohe Anteile an freiem Diazepam, die im weiteren Verlauf der Schwangerschaft stetig abnahmen, bis schließlich in der 35. Woche die Werte für ungebundenes Diazepam im foetalen und mütterlichen Serum gleich hoch waren. Bis zum Ende der Schwangerschaft stieg die Proteinbindung von Diazepam im foetalen Serum dann noch weiter an, während sie bei der Mutter im selben Zeitraum kontinuierlich abnahm.

Für Propranolol stellten dieselben Autoren ebenfalls eine niedrigere Proteinbindung im foetalen Serum gegenüber

dem mütterlichen Serum in der Frühschwangerschaft fest, aber trotz ansteigender Bindungswerte im Foetus während der weiteren Schwangerschaft erreichten sie nie eine ähnlich hohe Bindung wie im mütterlichen Serum.

Um die Gefahr von Interaktionen mit anderen Pharmaka zu vermeiden, war ein weiteres Postulat an unsere Neugeborenenplasmaproben, daß die Mütter in den letzten Tagen vor der Entbindung außer Eisenpräparaten keinerlei Medikamente eingenommen hatten und alle spontan entbanden. Lediglich vor der Austreibungsphase bei der Entbindung hatten drei Frauen 50 - 100 mg Pethidin intramuskulär erhalten. Neben dem analgetischen Effekt sollte damit die dilatierende Wirkung des Pethidin auf die cervix uteri ausgenützt werden.

In den Untersuchungen von Nation (1981) wird Meperidine (= die angelsächsische Bezeichnung für Pethidin) im mütterlichen Plasma zu 63,3 % an die Proteine gebunden und im foetalen Plasma zu 51,7 %. Aufgrund dieser relativ geringen Proteinbindung von Meperidine und aufgrund der Tatsache, daß Pruitt and Dayton (1971) keinen Einfluß von Meperidine auf die Plasmaproteinbindung von vier verschiedenen Pharmaka feststellen konnten, sind wir davon ausgegangen, daß das verabreichte Pethidin auf unsere Bindungsstudien ebenfalls keinen Einfluß haben würde.

Andererseits gibt es eine Reihe von Untersuchungen, die eine gegenseitige Verdrängung von Pharmaka aus ihrer Proteinbindung belegen (Glasson et al. 1980, Mac Kichan 1984, Fehske and Müller 1986). Hamar and Levy (1980) beobachteten nach der

Gabe von Oxytocin eine verminderte Serumproteinbindung von Salicylsäure und Diazepam bei den Müttern, nicht aber bei ihren Kindern. Im Gegensatz dazu konnten sie bei in vitro - Versuchen nach der Zugabe von Oxytocin keine Veränderung der Salicylsäurebindung feststellen.

Für die Erwachsenenplasmaproben waren ebenfalls nur gesunde Personen ohne Medikamenteneinnahme ausgesucht worden, nachdem Piafsky et al. (1978) bei Patienten mit entzündlichen Erkrankungen eine verstärkte Plasmaproteinbindung von Propranolol und Chlorpromazin gemessen hatten. Im Gegensatz dazu zeigte sich bei insulinpflichtigen Diabetikern ( Kemp et al. 1987 ) und bei Patienten mit einem malignen Tumor ( Urien et al. 1986 ) eine reduzierte Proteinbindung von Pharmaka.

#### b) Gleichgewichtsdialyse

Für in vitro - Untersuchungen zur Bestimmung der Proteinbindung von Arzneimitteln hat sich die Gleichgewichtsdialyse heute fest etabliert. Sie gilt nach Studien von Chignell et al. (1971), Kurz et al. (1977c) und Scholtan (1978) als die genaueste Methode, wenngleich auch hier noch einige Fehlermöglichkeiten vorhanden sind. Die wichtigsten seien aufgeführt und kurz erläutert:

- α) Adsorption des Pharmakons an die Dialysemembran
- β) Donnan - Effekt
- γ) Volumeneffekt durch die Proteine
- δ) Temperatureinfluß auf die Bindung

zu  $\alpha$  ) Die Bindung des Arzneistoffes an die Dialysemembran kann beträchtliche Werte annehmen. Schuhmann (1985) fand für Imipramin durchschnittlich 10,5 % und für Diazepam 8,8 % der eingesetzten Menge. Geringere Bindungswerte an die Membran erhielten Piafsky et al. (1978) für Propranolol (weniger als 1 %) und für Chlorpromazin (3 - 4 %). Für die Berechnung des proteingebundenen bzw. des freien Anteils spielt diese Membranadsorption jedoch keine Rolle, da die Pharmakonzentration in beiden Kammern der Dialysezelle gemessen worden ist, und sich somit der Fehler von selbst eliminiert.

zu  $\beta$  ) Eiweißstoffe können im Dialysesystem aufgrund ihrer Dissoziation zu einer unterschiedlichen Ladungsverteilung in beiden Dialysekammern führen (Donnan - Verteilung). Dadurch reichern sich kationische Pharmaka im proteinhaltigen Kompartiment vermehrt an. Da aber gegen einen Puffer mit einem pH in der Nähe des isoelektrischen Punktes der Plasmaproteine dialysiert worden ist, beträgt der Ladungsunterschied maximal 1 % (Wunderly 1956). Damit ist eine mögliche Anreicherung von kationischen Arzneimitteln im proteinhaltigen Kompartiment vernachlässigbar klein.

zu  $\gamma$  ) Volumenverschiebungen zwischen den beiden Dialysezellen aufgrund osmotischer Aktivität der Proteinmoleküle sind minimal, da die Proteinkonzentration im Plasma relativ klein ist.

zu 8 ) Einen nicht unwesentlichen Einfluß auf die Plasma-proteinbindung von Arzneimitteln kann die Temperatur ausüben, bei der die in vitro Versuche durchgeführt worden sind. Mit steigender Temperatur nimmt die Wasserlöslichkeit der Substanz zu und der Verteilungskoeffizient ab. Ferner wird der Arzneimittelabbau bei zunehmender Temperatur durch Biotransformation beschleunigt.

Noch nicht geklärt sind die temperaturbedingten Veränderungen an den Plasmaproteinen selbst. Ballard (1974) diskutiert bei erhöhter Temperatur eine reduzierte Anzahl von Bindungsstellen an den Plasmaproteinen und eine abgeschwächte Affinität Pharmakon - Protein.

Erwiesen ist jedoch, daß die Plasmaproteinbindung von Arzneimitteln mit steigender Temperatur abnimmt und sich somit die freien Anteile der Pharmaka im Plasma erhöhen ( Scholtan und Schmid 1962, Lunde et al. 1970 ).

Kristensen and Gram (1982) fanden eine lineare Beziehung zwischen Temperatur (25 °C - 42 °C) und Proteinbindung: Pro Grad Temperaturanstieg nimmt die Plasmaproteinbindung von Imipramin um 0,1 % ab.

Um diese temperaturbedingten Einflüsse auf die Plasma-proteinbindung unserer untersuchten Substanzen auf ein Minimum zu reduzieren und um weitgehend konstante Versuchsbedingungen zu erreichen, haben wir die Gleichgewichtsdialyse bei Kühlraumtemperatur (bei 4 °C) durchgeführt.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es festzustellen, ob für die untersuchten Pharmaka eine unterschiedliche Plasma-

proteinbindung bei Neugeborenen und Erwachsenen nachzuweisen ist und welche Größenordnung diese Unterschiede haben. Da aber mögliche Dialysefehler beide Versuchsreihen in gleichem Maße betroffen haben, dürfen sie bei der Interpretation der Ergebnisse übergangen werden. Sie können jedenfalls für die Bindungsunterschiede im Neugeborenen- und Erwachsenenplasma nicht ursächlich verantwortlich gemacht werden.

## 2) Einfluß der Proteinkonzentration auf die Bindung

Die Konzentration an Gesamteiweiß im Neugeborenenplasma ist in unserem Untersuchungsmaterial um ein Drittel niedriger als im Erwachsenenplasma (vgl. Tabelle 3). Die nächstliegende Schlußfolgerung wäre, in dieser Konzentrationsdifferenz die Ursache für die geringere Proteinbindung im Neugeborenenplasma von fünf der sechs untersuchten Pharmaka (Ausnahme: Diazepam) zu suchen.

Kurz et al. (1977a) haben in einer Versuchsreihe dem Neugeborenenplasma durch Ultrafiltration soviel Plasmawasser entzogen, bis es die gleiche Proteinkonzentration hatte wie das Erwachsenenplasma, und umgekehrt wurde das Erwachsenenplasma soweit verdünnt, bis es die gleiche Proteinkonzentration aufwies wie das Neugeborenenplasma. Bei der anschließenden Bindungsstudie mit drei verschiedenen Arzneimitteln (Nitrofurantoin, Chloramphenicol und Sulfamethoxydiazin) blieb trotz gleicher Proteinkonzentration die prozentuale Bindung an das Neugeborenenplasma immer geringer als an das Erwachsenenplasma.

Der physiologische Unterschied in der Gesamtprotein-konzentration hat demnach nur einen geringen Einfluß auf die Proteinbindung und kann die gemessenen Differenzen nicht erklären.

Betrachtet man die einzelnen Proteinfractionen, so findet man übereinstimmend durch zahlreiche Studien belegt, daß Albumin und das  $\alpha_1$ -saure Glykoprotein aus der Globulin-fraction die wichtigste Rolle bei der Plasmaproteinbindung von Arzneimitteln spielen ( Piafsky et al. 1978, Wood and Wood 1981, Petersen et al. 1981, Haram et al. 1983 ).

Allgemein kann man feststellen, daß sich die meisten sauren Substanzen überwiegend an Albumin binden und die meisten basischen Substanzen überwiegend an  $\alpha_1$ -saures Glykoprotein. Lipoproteine ( VLDL, LDL, HDL ) und die übrigen Globuline sind zwar ebenfalls in der Lage, eine Reihe von kationischen Substanzen zu binden ( Vallner and Chen 1977, Chen and Danon 1979 ), haben aber nur eine untergeordnete Bedeutung.

In unseren untersuchten Plasmaproben (vgl. Tabelle 3) sind die quantitativen Unterschiede zwischen den beiden Albuminfraktionen geringer als zwischen den Globulinfraktionen. Ähnliche Beobachtungen hat auch bereits Ganshorn (1975) gemacht. Pruitt and Dayton (1971) fanden zwar zwischen den Gesamtproteinkonzentrationen im Neugeborenen- und Erwachsenenplasma einen signifikanten Unterschied ( $p < 0,001$ ) nicht aber zwischen den Albuminkonzentrationen ( $p < 0,1$ ). Kurz et al. (1977b) konnten bei Bindungsstudien an die

isolierten Albuminfraktionen von Neugeborenen und Erwachsenen für die meisten untersuchten Pharmaka keinen signifikanten Unterschied feststellen. Dagegen haben Wood and Wood (1981) im Neugeborenenplasma eine sogar dreifach niedrigere Konzentration an  $\alpha_1$ -saurem Glykoprotein gemessen als im Erwachsenenplasma.

Diese Daten verdeutlichen, daß allenfalls bei der Globulinfraktion quantitative Konzentrationsunterschiede Hauptgrund für die unterschiedliche Proteinbindung sein können, bei der Albuminfraktion spielen auch andere Faktoren noch eine sehr wichtige Rolle.

Taira and Terada (1985) diskutieren zwei verschiedene Bindungsstellen am Albuminmolekül, wobei sie differenzieren zwischen einer begrenzten Anzahl von Bindungsstellen mit hoher Affinität und einer unbegrenzten Anzahl von Bindungsstellen mit geringer Affinität.

Die Affinität dieser Bindungsstellen für organische Substanzen muß beim Neugeborenenalbumin vermindert sein, um die unterschiedliche Proteinbindung erklären zu können. Ebenfalls in Frage kommen kompetitive oder nicht kompetitive Verdrängung aus der Proteinbindung durch andere endogene oder exogene Substanzen, und schließlich können auch allosterische Mechanismen die Struktur des Albuminmoleküls so verändern, daß eine Reduzierung der Bindung die Folge ist (Kurz et al. 1977b, Wallace 1977, Lee et al. 1982, Asali and Brown 1984).

Miyoshi et al. (1966) äußerten die Vermutung, daß das Neugeborenenalbumin, ähnlich wie das Foetal-Hämoglobin, im

Zeitraum von vier Monaten erst eine Umwandlung zu Erwachsenenalbumin durchmachen muß, um ähnliche Bindungsqualitäten entwickeln zu können.

Diese qualitativen Veränderungen am Neugeborenenalbumin sind sehr komplexer Natur und müssen noch gründlich erforscht werden, da sie sich nicht konkret messen und berechnen lassen. Andererseits muß das veränderte Bindungsverhalten aber unbedingt gleichzeitig mit der erniedrigten Proteinkonzentration genannt werden, wenn man die Unterschiede in der Proteinbindung befriedigend erklären will.

### 3) Einfluß der Bilirubinkonzentration auf die Bindung

Bilirubin geht als körpereigene Substanz ebenfalls eine hohe Proteinbindung ein. Odell (1973) konnte nachweisen, daß Bilirubin an zwei verschiedenen Zentren am Albuminmolekül gebunden wird: Ein Zentrum mit hoher Affinität, das sättigbar ist und aus dem Bilirubin nicht zu verdrängen ist und ein weiteres Zentrum mit niedriger Bindungsaffinität und einer unbegrenzten Anzahl von Bindungsstellen, aus denen Bilirubin durch andere Substanzen verdrängt wird.

Mittlerweile gibt es mehrere Studien, die belegen, daß Bilirubin und Pharmaka, die sich überwiegend an Albumin binden, sich gegenseitig in der Proteinbindung durch kompetitive Verdrängung oder allosterische Effekte beeinflussen ( Ehrnebo et al. 1971, Windorfer 1973, Fredholm et al. 1975, Kurz et al. 1977b, Oie and Levy 1977 ). So wiesen z.B. Rane et al. (1971) eine positive Korrelation zwischen der

freien Konzentration von Phenytoin und der Plasmakonzentration von Bilirubin bei normalen und hyperbilirubinämischen Kindern nach.

Aber auch freie Fettsäuren sind in der Lage, Bilirubin aus seiner Albuminbindung zu verdrängen ( Odell 1973, Ostrea et al. 1983 ). Die freien Fettsäuren binden an dieselben Zentren mit hoher Affinität am Albuminmolekül wie Bilirubin.

Wie Kurz et al. (1977b) zeigten, hat Bilirubin auf die Proteinbindung von globulingegebenen Substanzen keinen Einfluß; man kann daraus folgern, daß sich Bilirubin nicht an  $\alpha_1$ -saures Glykoprotein bindet.

Die Bilirubinkonzentration in unserem Untersuchungsmaterial ist im Neugeborenenplasma um 28 % höher als im Erwachsenenplasma. Kurz et al. (1977a) haben mit 1,4 - 2,6 mg % für das Neugeborenenplasma und 0,1 - 0,3 mg % für das Erwachsenenplasma eine wesentlich größere Bilirubinkonzentrationsdifferenz gemessen.

Nach den Ergebnissen einer Versuchsreihe mit unterschiedlichen Bilirubinkonzentrationen von Kern (1977) ist aber bei den von uns gemessenen Bilirubinkonzentrationen keine Verdrängung der Arzneimittel aus ihrer Proteinbindung zu erwarten. Dafür wären wesentlich höhere Konzentrationen erforderlich.

Somit läßt sich auch durch den physiologischen Unterschied in der Bilirubinkonzentration die unterschiedliche Proteinbindung zwischen Neugeborenen- und Erwachsenenplasma nicht erklären.

#### 4) Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind sehr unterschiedlich ausgefallen. Zwar konnte eine gute Übereinstimmung im Vergleich der Proteinbindung an Neugeborenen- und Erwachsenenplasma für alle sechs Pharmaka nachgewiesen werden (siehe Abb. 1), aber die Höhe der Proteinbindung zeigt zwischen den beiden Plasmaarten doch teilweise sehr unterschiedliche Meßergebnisse. Wie aus Abbildung 2 ersichtlich, ließ sich für die beiden Substanzen mit den geringsten freien Anteilen - und damit mit der stärksten Proteinbindung - Warfarin und Diazepam, der geringste bzw. gar kein Unterschied in der Proteinbindung feststellen ( für Warfarin  $p < 0,02$  , für Diazepam nicht signifikant ); d.h. also je höher die Proteinbindung umso weniger Differenz zwischen Neugeborenen und Erwachsenen. Umgekehrt nehmen die Bindungsunterschiede zwischen Neugeborenen- und Erwachsenenplasma bei geringerer Proteinbindung recht beträchtliche Ausmaße an.

Ferner ist festzustellen, daß die beiden sauren, d.h. anionischen Pharmaka, Phenytoin und Warfarin, weniger signifikante Unterschiede in ihrem Bindungsverhalten aufweisen als die drei starken Basen, Chlorpromazin, Imipramin und Propranolol. Die Bindung von Phenytoin im Neugeborenenplasma ist um 5 % niedriger als im Erwachsenenplasma und die Bindung von Warfarin gar nur um 1 % niedriger, entsprechend  $p < 0,01$  für Phenytoin und  $p < 0,02$  für Warfarin.

Sowohl Phenytoin als auch Warfarin werden zum aller-

größten Teil an Albumin gebunden ( Dean et al. 1980, Morse et

al. 1985 ). Da sich unsere beiden Plasmaarten nicht so sehr in der Albuminkonzentration als vielmehr in der Globulinkonzentration unterscheiden (vergl. IV.2. und Tabelle 3), könnte dieser Faktor auch eine mögliche Erklärung sein für die geringen Bindungsunterschiede von Phenytoin und Warfarin. Zusätzlich muß noch erwähnt werden, daß Warfarin aufgrund von allosterischen Veränderungen am Albuminmolekül durch die freien Fettsäuren aus seiner Albuminbindung verdrängt werden kann ( Wilding et al. 1977, Rietbrock et al. 1985 ).

Dagegen spiegelt die deutlich reduzierte Globulinfraktion in unserem Neugeborenenplasma auch die erheblichen Bindungsunterschiede von Chlorpromazin, Imipramin und Propranolol zwischen Neugeborenen- und Erwachsenenplasma wider: bei Chlorpromazin 7 %, bei Imipramin 25 % und bei Propranolol 35 %, entsprechend  $p < 0,001$  für alle drei Pharmaka (vergl. Abb. 2). Alle drei Substanzen binden nämlich überwiegend an  $\alpha_1$ - saures Glykoprotein und ihre Bindung korreliert sehr gut mit der plasmatischen Konzentration von  $\alpha_1$ - saurem Glykoprotein ( Borgå et al. 1977, Glasson et al. 1980, Abernethy and Kerzner 1984, Freilich and Giardina 1984, Morse et al. 1985 ). Wenn allerdings die Konzentration von  $\alpha_1$ - saurem Glykoprotein wie im Neugeborenenplasma sehr niedrig ist ( Wood and Wood 1981 ), dann binden sich kationische Pharmaka auch vermehrt und stärker an andere Plasmaproteine ( Levy 1984 ). Dieses Phänomen kommt auch zum Ausdruck, wenn die Propranololbindung zwar beim Foeten mit der Albuminkonzentration korreliert, nicht aber mit der  $\alpha_1$ - sauren Glykoproteinkonzentra-

tion;und umgekehrt korreliert im mütterlichen Serum die Propranololbindung zwar mit der  $\alpha_1$ - sauren Glykoproteinkonzentration,nicht aber mit der Albuminkonzentration ( Krauer et al. 1986).

Eine weitere Besonderheit des  $\alpha_1$ - sauren Glykoproteins haben Glasson et al. (1980) entdeckt.Dieses sogenannte "Akut-Phase- Protein" besitzt von allen Plasmaproteinen gegenüber Propranolol die höchste Bindungsaffinität bei relativ kleiner Bindungskapazität.Bereits bei einer Substanzkonzentration von  $2,5 \times 100$  ng/ml zeigt die Propranololbindung einen Sättigungseffekt und damit ist das  $\alpha_1$ - saure Glykoprotein das einzige Plasmaprotein,dessen Bindungskapazität im therapeutischen Konzentrationsbereich sättigbar ist.

Eine Sonderstellung nimmt Diazepam ein.Es ist als einzige von den vier untersuchten Basen bei einem pH von 7,40 im Plasma praktisch nicht dissoziiert (vergl. II.2.).Außerdem ist bekannt,daß Diazepam sich in höchstem Maße an das Albuminmolekül bindet und zwar sogar an dieselben Bindungsstellen wie saure Substanzen ( Sjöholm et al. 1979, Lee et al. 1982, Yoshikawa et al. 1984,Morse et al. 1985 ).Aufgrund dieser nahezu vollständigen Eiweißbindung (  $> 99 \%$  ) war es uns auch nicht möglich,noch einen Unterschied zwischen Neugeborenen- und Erwachsenenplasma nachzuweisen (vergl. Abb. 2).

Da Diazepam stark lipophil ist,hat die Albuminkonzentration selbst für die Proteinbindung von Diazepam weniger Bedeutung als die Konzentration an freien Fettsäuren im Plasma. Diazepam und freie Fettsäuren hemmen sich gegenseitig kom-

petitiv in der Albuminbindung und daher korreliert die Diazepambindung sehr eng mit der Konzentration an freien Fettsäuren im Plasma ( Nau et al. 1984 ).

#### 5) Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren

Tabelle 4 gibt einen Überblick über die Bindungsdaten anderer Autoren im Plasma bzw. Serum von Neugeborenen und Erwachsenen von den von uns untersuchten sechs Pharmaka.

Es wird deutlich, daß die Arzneimittel, welche häufiger während der Schwangerschaft verabreicht werden müssen, auch bereits ausführlicher und intensiver untersucht worden sind.

Eine Sonderstellung nehmen die Bindungswerte an mütterliches Plasma ( M ) ein. Da die Proteinkonzentration im mütterlichen Blut niedriger ist als beim Normal- Erwachsenen, finden sich hier auch geringere Proteinbindungswerte als im Erwachsenenplasma und können sogar die Neugeborenen-Bindungswerte unterschreiten.

Wir haben uns bei der Durchführung der Versuche weitgehend an der von Ganshorn (1975) angewandten Methodik orientiert. Wir dialysierten unsere Plasmaproben bei derselben Temperatur und setzten auch jeweils dieselbe Substanzkonzentration von ungefähr  $1 \times 10^{-4}$  Mol/l je Dialyseansatz ein. Im Gegensatz zu ihr verwendeten wir zur Gleichgewichtsdialyse allerdings Stahlzellen und keine Cellulose- Schläuche und die Auswertung erfolgte radiometrisch mit dem Scintillationszähler und nicht mehr spektralphotometrisch. Ferner verwendeten wir nur gepooltes Plasma. Da Ganshorn für die Dialyse

Proteinbindung in Prozent ( % )  
bei

|                      | Neugeborenen | Erwachsenen | Autoren               |
|----------------------|--------------|-------------|-----------------------|
| <u>Phenytoin</u>     | /            | 92,6        | Lunde et al. 1970     |
|                      | 73,9         | 81,9        | Pruitt a. Dayton 1971 |
|                      | 84           | 90          | Ehrnebo et al. 1971   |
|                      | 74,4         | 85,8        | Ganshorn 1975         |
|                      | 81,5         | 81,7 (M)    | Hamar and Levy 1980   |
|                      | /            | 88,3        | Wittfoht et al. 1984  |
|                      | 88,59        | 93,12       | eigene Ergebnisse     |
| <u>Warfarin</u>      | ≈ 98         | ≈ 99        | Nau et al. 1983       |
|                      | 97,44        | 98,34       | eigene Ergebnisse     |
| <u>Chlorpromazin</u> | /            | 92-95,7     | Curry 1970            |
|                      | /            | 98,37       | Piafsky et al. 1978   |
|                      | 84,44        | 90,70       | eigene Ergebnisse     |
| <u>Diazepam</u>      | 98,91        | 97,71 (M)   | Hamar and Levy 1980   |
|                      | 96,4         | 97,6        | Wood and Wood 1981    |
|                      | ≈ 97,5       | ≈ 98        | Nau et al. 1983       |
|                      | /            | 98,15       | Wittfoht et al. 1984  |
|                      | /            | 98,8        | Morse et al. 1985     |
|                      | ≈ 98,5       | ≈ 98 (M)    | Krauer et al. 1986    |
|                      | 99,19        | 99,14       | eigene Ergebnisse     |
| <u>Imipramin</u>     | 74,0         | 86,3        | Pruitt a. Dayton 1971 |
|                      | /            | 92,5        | Piafsky a. Borgå 1977 |
|                      | /            | 89,1        | Kristensen 1983       |
|                      | 57,17        | 76,43       | eigene Ergebnisse     |
| <u>Propranolol</u>   | /            | 89,3        | Piafsky et al. 1978   |
|                      | 56,7         | 85,3        | Wood and Wood 1981    |
|                      | ≈ 72         | ≈ 84 (M)    | Krauer et al. 1986    |
|                      | 38,62        | 59,83       | eigene Ergebnisse     |

Tabelle 4 : Vergleich der eigenen Proteinbindungsdaten an Neugeborenen- und Erwachsenenplasma mit den Ergebnissen in der Literatur

(M) = Bindung im mütterlichen Plasma bzw. Serum

≈ = die Zahlen sind nur Annäherungswerte, da sie aus den graphischen Darstellungen der jeweiligen Veröffentlichung entnommen worden sind.

das Plasma mit Phosphatpuffer auf 9 : 1 verdünnt hat, mag dies die Ursache sein, warum ihre Bindungswerte für Phenytoin deutlich niedriger sind als in unseren Versuchen. Denn die Proteinkonzentrationen selbst unterscheiden sich lediglich beim Neugeborenenplasma geringfügig voneinander:

|                                       | Gesamteiweiß<br>in g % | Albumin<br>in g % |               |
|---------------------------------------|------------------------|-------------------|---------------|
| <u>Neugeborenen-</u><br><u>plasma</u> | 5,2 - 6,4              | 3,12 - 3,8        | Ganshorn 1975 |
|                                       | 4,8                    | 3,18              | eigene Ergeb. |
| <u>Erwachsenen-</u><br><u>plasma</u>  | 7,2                    | 4,5               | Ganshorn 1975 |
|                                       | 7,2                    | 4,59              | eigene Ergeb. |

Mit den Bindungsergebnissen aller anderen Autoren sind unsere Daten nur sehr eingeschränkt vergleichbar. In allen zitierten Arbeiten wurden die Versuche bei 37 °C durchgeführt. Dies kann allein schon zu einer Reduzierung der Proteinbindung führen (vergl. IV.1.b.δ.).

Bei fünf Studien ( Lunde et al. 1970, Pruitt and Dayton 1971, Nau et al. 1983, Wittfoht et al. 1984, Krauer et al. 1986) wurde die Proteinbindung mit Hilfe der Ultrafiltrations-Technik bestimmt. Diese Methode ist nach Kurz et al. (1977c) ungenauer und enthält mehr Fehlermöglichkeiten als die Gleichgewichtsdialyse.

Am deutlichsten sind die Unterschiede bei den drei Pharmaka, die hauptsächlich an  $\alpha_1$ - saures Glykoprotein gebunden werden ( Chlorpromazin, Imipramin und Propranolol ). Da die von uns eingesetzte Substanzkonzentration von jeweils 30 µg/ml um das 100- fache höher ist als die Konzentration

von Propranolol, unter der Glasson et al. (1980) bereits einen Sättigungseffekt des  $\alpha_1$ -sauren Glykoprotein beobachtet haben, liegt der Schluß nahe, daß in unserer hohen Substanzkonzentration die Gründe für unsere niedrigen Bindungswerte zu suchen sind.

Im Gegensatz dazu scheint die Substanzkonzentration bei den Pharmaka, die sich überwiegend an Albumin binden, keine so wichtige Rolle zu spielen, was auf eine sehr hohe Bindungskapazität des Albuminmoleküls hinweist. Dementsprechend unterscheiden sich unsere Bindungsdaten von Phenytoin, Warfarin und Diazepam auch nicht in dem Maße von den Ergebnissen in der Literatur trotz der höheren eingesetzten Substanzkonzentration.

Als weitere Ursachen für unterschiedliche Bindungsergebnisse kommen auch noch mögliche Interaktionen mit anderen Pharmaka in Frage. Die Hälfte der aufgeführten Autoren hat als gerinnungshemmendes Agens Heparin verwendet. Wie jedoch Güntert et al. (1982) und Hamilton et al. (1982) berichteten, ist Heparin bei höherer Konzentration in der Lage, die Proteinbindung von bestimmten Pharmaka, wie z.B. Chinidin, zu vermindern.

In den Untersuchungen von Hamar and Levy (1980), Nau et al. (1983) und Krauer et al. (1986) waren den Müttern vor oder während des Geburtsvorganges zahlreiche Medikamente, u.a. Oxytocin, verabreicht worden, so daß die Bindungseigenschaften und -kapazitäten der Proteine möglicherweise erheblich beeinträchtigt worden sind (vergl. IV.1.a.).

Wenn man all diese unterschiedlichen Versuchsbedingungen berücksichtigt, dann läßt sich trotz teilweise deutlicher Diskrepanz zwischen den einzelnen Bindungsergebnissen doch eine gute Übereinstimmung mit den anderen Autoren in dem Punkt feststellen, daß Phenytoin, Warfarin, Chlorpromazin, Imipramin und Propranolol im Neugeborenenplasma weniger stark gebunden werden als im Erwachsenenplasma und daß Diazepam in beiden Plasmaarten eine gleich hohe Proteinbindung erfährt.

#### 6) Schlußfolgerungen aus den Ergebnissen

Der Organismus des Neugeborenen muß sich nach der Geburt an das neue Milieu erst noch adaptieren und die einzelnen Organe ihre Funktionen eigenverantwortlich übernehmen. Allerdings sind in diesem Stadium die organischen Funktionen teilweise nur sehr begrenzt belastbar.

Nau et al. (1984) weisen auf die neonatale Unreife der Leber hin. Die Enzymsysteme der Leber zum Abbau von körpereigenen und körperfremden Substanzen sind noch nicht voll entwickelt und dadurch kommt es zu einer Kumulation dieser Stoffe im Organismus. Ein klassisches Beispiel ist der Kernikterus bei schwerer Hyperbilirubinämie aufgrund einer verminderten Glukuronyltransferaseaktivität in der Leber. Dasselbe Krankheitsbild läßt sich aber auch bei nur mäßig erhöhter Bilirubinkonzentration erst induzieren, wenn man Neugeborenen bestimmte Pharmaka verabreicht, die sich an dieselben Bindungsstellen am Albuminmolekül binden wie Bilirubin (Silverman et al. 1956, Odell 1973). Durch die Konkurrenz um

die Bindungsstellen können die freien Anteile sowohl von Bilirubin als auch von den Pharmaka toxisch erhöht sein. Das- selbe gilt auch bei mehreren gleichzeitig verabreichten Arzneimitteln, die dieselben Bindungsstellen an den Plasma- proteinen haben.

Deshalb sollten folgende Punkte bei jeder Applikation von einem Arzneimittel an eine Schwangere oder an ein Neuge- borenes beachtet und berücksichtigt werden:

a) Die Dosierungsangaben für gesunde Erwachsene dürfen nicht ohne Korrektur auf Schwangere übertragen werden. Bei schwang- eren Frauen besteht eine physiologische Hypalbuminämie, die für viele Arzneimittel eine reduzierte Proteinbindung bein- haltet. Als Folge davon akkumuliert das Arzneimittel im Foeten ( Nau et al. 1983 ). So sind toxische Plasmaspiegel von Anti- epileptika in der Lage, Mißbildungen beim Foeten hervorzu- rufen.

Deshalb fordert Perucca (1984) die Messung des unge- bundenen Anteils der Arzneimittelkonzentration im Plasma und gibt sich mit der Bestimmung der Gesamtkonzentration für die Therapieüberwachung nicht zufrieden.

Eine offene Frage bleibt, ob sich diese Konzentrations- messungen in die tägliche Praxis umsetzen lassen; ein großer Fortschritt für die Sicherheit von Mutter und Kind wären sie in jedem Fall.

b) Das Neugeborene ist keine "Miniatúrausgabe" des Erwachsenen. Deshalb genügt es nicht, die Dosierung nur nach Körpergewicht oder Körperoberfläche anzupassen. Die erniedrigte Proteinkonzentration beim Neugeborenen, das veränderte Bindungsverhalten der Plasmaproteine und die verzögerte Elimination müssen ebenso berücksichtigt werden wie die Gefahr möglicher Interaktionen mit anderen endogenen und exogenen Substanzen.

Es ist schwierig, diese Faktoren alle in eine adäquate Dosierungsangabe miteinzubeziehen, aber hilfreich wäre z.B. sicherlich, den Hauptliganden unter den Proteinen für jedes einzelne Pharmakon zu kennen. Anhand dessen Konzentration könnte man dann bessere Rückschlüsse auf die Höhe der Proteinbindung ziehen.

Krauer et al. (1986) empfehlen, große Bolusgaben zu vermeiden und besser in kleinen fraktionierten Dosen den Tagesbedarf an einem Pharmakon zu verordnen. Dieser Vorschlag kommt der reduzierten Bindungskapazität der Plasmaproteine beim Neugeborenen sehr entgegen und kann hohe Spitzenspiegel vermeiden helfen.

Unsere in vitro- Untersuchungen haben nur isoliert die Plasmaproteinbindung von Pharmaka bei Neugeborenen und Erwachsenen betrachtet. Die unterschiedlichen Bindungsergebnisse können zwar ein guter Anhaltspunkt für eine Dosierungsangabe

sein, sind aber für sich alleine nicht aussagefähig genug. Dazu sind vielmehr noch pharmakokinetische Parameter wie Verteilungsvolumen, Eliminationsart und Eliminationshalbwertszeit notwendig, wie sie sich in vivo abspielen. Aufgrund der komplizierten Zusammenhänge im Organismus muß hier noch viel geforscht werden.

## V) Zusammenfassung

1. Die Bindung von sechs Pharmaka an die Plasmaproteine von Neugeborenen und erwachsenen Menschen wurde mit der Methode der Gleichgewichtsdialyse untersucht.
2. Für Phenytoin, Warfarin, Chlorpromazin, Imipramin und Propranolol wurde im Neugeborenenplasma eine signifikant geringere Proteinbindung nachgewiesen als im Erwachsenenplasma. Diazepam wurde in beiden Plasmaarten gleich hoch gebunden.
3. Mögliche Ursachen für die unterschiedliche Proteinbindung im Neugeborenen- und Erwachsenenplasma werden diskutiert und die Ergebnisse mit der Literatur verglichen.
4. Die Konsequenzen aus den Bindungsergebnissen für die klinische Anwendung von Arzneimitteln bei schwangeren Frauen und Neugeborenen werden aufgezeigt.

## VI) Literaturverzeichnis

Abernethy D.R., Kerzner L.

Age effects on  $\alpha_1$ - acid glycoprotein concentration and imipramine plasma protein binding

J. Am. Geriatr. Soc. 32, 705 - 708, (1984)

Asali L.A., Brown K.F.

Naloxone protein binding in adult and foetal plasma

Eur. J. Clin. Pharmacol. 27, 459 - 463, (1984)

Ballard B.E.

Pharmacokinetics and temperature

J. Pharmaceut. Sci. 63, 1345 - 1358, (1974)

Baur G., Kurz H., Trunk H.

Alteration of protein-binding during storage of human plasma preparations

Anaesthesist 26, 148 - 150, (1977)

Belpaire F.M., Braeckman R.A., Bogaert M.G.

Binding of oxprenolol and propranolol to serum, albumin and  $\alpha_1$ - acid glycoprotein in man and other species

Biochem. Pharmacol. 33, 2065 - 2069, (1984)

Bennhold H.

Über die Vehikelfunktion der Serumeiweißkörper

Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. 42, 273 (1932)

Borgá O., Piafsky K.M., Nilsen O.G.

Plasma protein binding of basic drugs. I. Selective displacement from  $\alpha_1$ - acid glycoprotein by tris (2-butoxyethyl) phosphate

Clin. Pharmacol. Ther. 22, 539 - 544, (1977)

Chen Z., Danon A.

Binding of reserpine to plasma albumin and lipoproteins

Biochem. Pharmacol. 28, 267 - 271, (1979)

Chignell C.F., Vesell E.S., Starkweather D.K., Berlin Ch.M.

The binding of sulfaphenazole to fetal, neonatal and adult human plasma albumin

Clin. Pharmacol. Ther. 12, 897 - 901, (1971)

Curry S.H.

Plasma protein binding of chlorpromazine

J. Pharm. Pharmacol. 22, 193 - 197, (1970)

Davis B.D.

Binding of sulfonamides by plasma proteins

Science 95, 78 (1942)

Dean M., Stock B., Patterson R.J., Levy G.  
Serum protein binding of drugs during and after pregnancy in humans  
Clin. Pharmacol. Ther. 28, 253 - 261, (1980)

Ebad M.S., Kugel R.B.  
Alteration in metabolism of acetylsalicylic acid in children with Down's syndrome: Decreased plasma binding and formation of salicylic acid  
Pediatr. Res. 4, 187 - 193, (1970)

Ehrnebo M., Agurell S., Jalling B., Boréus L.O.  
Age differences in drug binding by plasma proteins: Studies on human fetuses, neonates and adults  
Europ. J. Clin. Pharmacol. 3, 189 - 193, (1971)

Fehske K.J., Müller W.E.  
High-affinity binding of ethacrynic acid is mediated by the two most important drug binding sites of human serum albumin  
Pharmacology 32, 208 - 213, (1986)

Fredholm B.B., Rane A., Persson B.  
Diphenylhydantoin binding to proteins in plasma and its dependence on free fatty acid and bilirubin concentration in dogs and newborn infants  
Pediatr. Res. 9, 26 - 30, (1975)

Freilich D.I., Giardina E.G.  
Imipramine binding to alpha 1- acid glycoprotein in normal subjects and cardiac patients  
Clin. Pharmacol Ther. 35, 670 - 674, (1984)

Ganshorn A.  
Die Unterschiede der Bindung einiger Arzneimittel an Plasma-proteine vom Neugeborenen und Erwachsenen  
Inauguraldiss. an der Ludwig Max.- Universität München (1975)

Ganshorn A., Kurz H.  
Unterschiede zwischen der Proteinbindung Neugeborener und Erwachsener und ihre Bedeutung für die pharmakologische Wirkung  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 260, 117 - 118, (1968)

Garn F.W., Kimbel K.H.  
Verbleib und Ausscheidung von Depot- Sulfonamiden  
Arzneim. Forsch. 11, 701 (1961)

Gilligan D.R.  
Blood levels of sulfadiazine, sulfamerazine and sulfamethazine in relation to binding in the plasma  
J. Pharmacol. Exper. Ther. 79, 320 (1943)

Glasson S., Zini R., D'Athis Ph., Tillement J.-P., Boissier J.R.  
The distribution of bound propranolol between the different  
human serum proteins  
Mol. Pharmacol. 17, 187 - 191, (1980)

Goodman and Gilman  
Pharmacological basis of therapeutics  
6.th Ed. Macmillan, New York (1980)

Güntert T.W., Huang J.D., Oie S.  
Disposition of quinidine in the rabbit  
J. Pharm. Sci. 71, 812 - 815, (1982)

Hamar C., Levy G  
Serum protein binding of drugs and bilirubin in newborn  
infants and their mothers  
Clin. Pharmacol. Ther. 28, 58 - 63, (1980)

Hamilton S.F., Waller E.S., Yakatan G.J., Ludden T.M.  
The production of free fatty acids in post- heparin plasma  
during equilibrium dialysis  
Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology 35, 519 - 522, (1982)

Haram K., Augensen K., Elsayed A.  
Serum protein pattern in normal pregnancy with special  
reference to acute- phase reactants  
Br. J. Obstet. Gynaecol. 90, 139 - 145, (1983)

Herzfeldt C.D.  
Dissoziationskonstanten von Arzneistoffen  
Pharmazeut. Zeitung 125, 608 - 614, (1980)

Herzog R.  
LSC - Scintillation Counting  
Pharmazie in unserer Zeit, 12. Jahrg. 3, 80 - 89, (1983)

Kemp S.F., Kearns G.L., Turley C.P.  
Alteration of phenytoin binding by glycosylation of albumin  
in IDDM  
Diabetes 36, 505 - 509, (1987)

Kern H.  
Untersuchungen zur Verdrängung von Arzneistoffen aus der  
Plasma- Proteinbindung durch Bilirubin  
Inauguraldiss. an der Ludwig Max.- Universität München (1977)

Krasner J.K., Giacoia G.P., Yaffe S.J.  
Drug- protein binding in the newborn infant  
Ann. N. Y. Acad. Sci. 226, 101 - 114, (1973)

- Krauer B., Nau H., Dayer P., Bischof P., Anner R.  
Serum protein binding of diazepam and propranolol in the  
feto- maternal unit from early to late pregnancy  
Br. J. Obstet. Gynaecol. 93, 322 - 328, (1986)
- Kristensen C.B., Gram L.F.  
Equilibrium dialysis for determination of protein binding or  
imipramine- evaluation of a method  
Acta Pharmacol. Toxicol. ( Kopenh.) 50, 130 - 136, (1982)
- Kristensen C.B.  
Imipramine serum protein binding in healthy subjects  
Clin. Pharmacol. Ther. 34, 689 - 694, (1983)
- Kurz H.  
Pharmakokinetische Bedeutung der Proteinbindung  
Klin. Wschr. 56, 1195 - 1204, (1978)
- Kurz H., Fichtl B.  
Binding of drugs to tissues  
Drug Metabolism Reviews 14, 467 - 510, (1983)
- Kurz H., Mauser - Ganshorn A., Stickel H.H.  
Differences in the binding of drugs to plasma proteins from  
newborn and adult man. I  
Europ. J. Clin. Pharmacol. 11, 463 - 467, (1977a)
- Kurz H., Michels H., Stickel H.H.  
Differences in the binding of drugs to plasma proteins from  
newborn and adult man. II  
Europ. J. Clin. Pharmacol. 11, 469 - 472, (1977b)
- Kurz H., Trunk H., Weitz B.  
Evaluation of methods to determine protein- binding of drugs  
Arzneimittelforschung/Drug Research 27 II, 1373-1380, (1977c)
- Lee G.N., Chen S.S., Richens A., Menabawey M., Chard T.  
Serum protein binding of diazepam in maternal and foetal  
serum during pregnancy  
Br. J. Clin. Pharmacol. 14, 551 - 554, (1982)
- Levy G.  
Protein binding of drugs in the maternal- fetal unit and its  
potential clinical significance  
In Drugs and Pregnancy -Maternal Drug Handling- Fetal Drug  
Exposure (Krauer B., Krauer F., Hytten F.E., del Pozo E. eds)  
Academic Press, London, pp. 29 - 42
- Lunde P.K.M., Rane A., Yaffe S.J., Lund L., Sjöqvist F.  
Plasma protein binding of diphenylhydantoin in man  
Clin. Pharmacol. Ther. 11, 846 - 855, (1970)

- Mac Kichan J.J.  
Pharmacokinetic consequences of drug displacement from blood and tissue proteins  
Clin. Pharmacokinet. 9, 32 - 41, (1984)
- Martindale W.  
The extrapharmacopoeia  
Pharmaceutical Press - London (1977)
- Mather L.E., Long G.J., Thomas J.  
The binding of bupivacaine to maternal and foetal plasma proteins  
J. Pharm. Pharmacol. 23, 359 - 365, (1971)
- Miyoshi K., Saijo K., Kotani Y., Kashiwagi T., Kawai H.  
Characteristic properties of fetal human albumin in isomerization equilibrium  
Tokushima J. Exp. Med. 13, 121 - 128, (1966)
- Morse D.S., Abernethy D.R., Greenblatt D.J.  
Methodologic factors influencing plasma binding of alpha 1 - acid glycoprotein- bound and albumin- bound drugs  
Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. 23, 535 - 539, (1985)
- Nation R.L.  
Meperidine binding in maternal and fetal plasma  
Clin. Pharmacol. Ther. 29, 472 - 479, (1981)
- Nau H., Luck W., Kuhn W.  
Decreased serum protein binding of diazepam and its major metabolite in the neonate during the first postnatal week relate to increased free fatty acid levels  
Br. J. Clin. Pharmacol. 17, 92 - 98, (1984)
- Nau H., Luck W., Kuhn W., Wegener S.  
Serum protein binding of diazepam, desmethyldiazepam, furosemide, indomethacin, warfarin, and phenobarbital in human fetus, mother, and newborn infant  
Pediatric Pharmacology 3, 219 - 227, (1983)
- Odell G.B.  
Influence of binding on the toxicity of bilirubin  
Ann. N. Y. Acad. Sci. 226, 225 - 237, (1973)
- Oie S., Levy G.  
Interindividual differences in the effect of drugs on bilirubin plasma binding in newborn infants and in adults  
Clin. Pharmacol. Ther. 21, 627 - 632, (1977)
- Ostrea E.M., Bassel M., Fleury C.A., Bartos A., Jesurum C.A.  
Influence of free fatty acids and glucose infusion on serum bilirubin and bilirubin binding to albumin: Clinical implications  
J. Pediatr. 102, 426 - 432, (1983)

Perucca E.

Free level monitoring of antiepileptic drugs. Clinical usefulness and case studies

Clin. Pharmacokinet. 9, 71 - 78, (1984)

Petersen M.C., Moore R.G., Nation R.L.

Relationship between the transplacental gradients of bupivacaine and  $\alpha_1$ - acid glycoprotein

Br. J. Clin. Pharmacol. 12, 859 - 862, (1981)

Piafsky K.M., Borgå O.

Plasma protein binding of basic drugs

Clin. Pharmacol. Ther. 22, 545 - 549, (1977)

Piafsky K.M., Borgå O., Odar - Cederlöf I., Johansson C., Sjöqvist F.

Increased plasma protein binding of propranolol and chlorpromazine mediated by disease- induced elevations of  $\alpha_1$ - acid glycoprotein

N. Engl. J. Med. 299, 1435 - 1439, (1978)

Pruitt A.W., Dayton P.G.

A comparison of the binding of drugs to adult and cord plasma

Europ. J. Clin. Pharmacol. 4, 59 - 62, (1971)

Rane A., Lunde P.K.M., Jalling B., Yaffe S.J., Sjöqvist F.

Plasma protein binding of diphenylhydantoin in normal and hyperbilirubinemic infants

J. Pediatr. 78, 877 - 882, (1971)

Rietbrock N., Menke G., Reuter G., Lassmann A., Schmeidl R.

Influence of palmitate and oleate on the binding of warfarin to human serum albumin: stopped- flow studies

J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 23, 719 - 723, (1985)

Rowland M., Tozer Th. N.

Clinical pharmacokinetics: concepts and applications

Lea & Febiger, Philadelphia 230 - 245, (1980)

Sachs L.

Angewandte Statistik: Statistische Methoden und ihre Anwendung  
5. Auflage, Springer - Verlag, Berlin Heidelberg New York,  
(1978)

Scholtan W.

Bestimmungsmethoden und Gesetzmäßigkeiten der Serumproteinbindung von Arzneimitteln

Arzneim.- Forsch. 28, 1937 - 1947, (1978)

Scholtan W., Schmid J.

Die Bindung der Penicilline an die Eiweißkörper des Serums und des Gewebes

Arzneim.- Forsch. 12, 741 - 750, (1962)

- Schuhmann G.  
Beziehung zwischen der Bindung von Pharmaka an Plasma und Gewebe in vitro und ihrer Verteilung in vivo  
Inauguraldiss. an der Ludwig Max.- Universität München (1985)
- Silverman W.A., Andersen D.H., Blanc W.A., Crozier D.N.  
A difference in mortality rate and incidence of kernikterus among premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regiments  
Pediatrics 18, 614 - 625, (1956)
- Sjöholm I., Ekman B., Kober A., Ljungstedt-Pahlman I., Seiving B., Sjödin T.  
Binding of drugs to human serum albumin: XI. The specificity of three binding sites as studied with albumin immobilized in microparticles  
Molec. Pharmacol. 16, 767 - 777, (1979)
- Taira Z., Terada H.  
Specific and non-specific ligand binding to serum albumin  
Biochem. Pharmacol. 34, 1999 - 2005, (1985)
- Urien S., Albengres E., Pinquier J.L., Tillement J.P.  
Role of alpha 1- acid glycoprotein, albumin, and nonesterified fatty acids in serum binding of apazone and warfarin  
Clin. Pharmacol. Ther. 39, 683 - 689, (1986)
- Vallner J.J., Chen L.  
 $\beta$ - lipoproteins: Possible plasma transport protein for basic drugs  
J. Pharm. Sci. 66, 420 - 421, (1977)
- Wallace A.  
Altered plasma albumin in the newborn infant  
Br. J. Clin. Pharmacol. 4, 82 - 84, (1977)
- Wilding G., Feldhoff R.C., Vesell E.S.  
Concentration- dependent effects of fatty acids on warfarin binding to albumin  
Biochem. Pharmacol. 26, 1143 - 1146, (1977)
- Windorfer A.  
Konkurrenz zwischen Arzneimittel und Bilirubin am Serumprotein  
Medical Tribune vom 16.11. 1973
- Wittfoht W., Duwe K., Kuhn W., Nau H.  
Microscale ultrafiltration technique for determining free drug in 50 -  $\mu$ l serum samples  
Clin. Chem. 30, 878 - 879, (1984)

Wood M., Wood A.J.J.

Changes in plasma drug binding and  $\alpha_1$ -acid glycoprotein in mother and newborn infant

Clin. Pharmacol. Ther. 29, 522 - 526, (1981)

Wunderly Ch.

Die Proteinbindung von 3,5-Dioxol 1,2-diphenyl 4 n butylpyrazolidin und weiterer Pharmaka

Arzneim. Forsch. 6, 731, (1956)

Yoshikawa T., Sugiyama Y., Sawada Y., Iga T., Hanano M., Kawasaki S., Yanagida M.

Effect of late pregnancy on salicylate, diazepam, warfarin, and propranolol binding: use of fluorescent probes

Clin. Pharmacol. Ther. 36, 201 - 208, (1984)



Die vorliegende Arbeit wurde vom Juli 1986 bis Februar 1987 am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Ludwig Maximilians - Universität München, Direktor Prof. Dr. W. Forth, unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Kurz durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. H. Kurz danke ich sehr für das Thema, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und für seine verständnisvolle Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn N. Touroutoglou und Herrn Dr. K. Walter für ihre hilfreiche Unterstützung und ihre guten Anregungen.

Frl. U. Schwaiger danke ich sehr für die stets freundliche praktische Zusammenarbeit.



## Lebenslauf

|                         |                                                                                                                                                                                                                            |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Konrad Müller           | geboren am 30. Juli 1949 in Übersfeld,<br>Gemeinde Marxheim, Kreis Donau - Ries                                                                                                                                            |
| Eltern                  | Johann und Kreszenz Müller, geb. Schober,<br>Landwirtseheleute in Übersfeld                                                                                                                                                |
| Wohnort                 | Olching, Kreis Fürstenfeldbruck                                                                                                                                                                                            |
| Schulbildung            | 1955 - 1962 Volksschule in Blossenau<br>1962 - 1971 humanistisches Rhabanus -<br>Maurus - Gymnasium in St. Ottilien<br>19. Juni 1971 Reifeprüfung                                                                          |
| Studium                 | 1972 - 1979 Humanmedizin an der Ludwig<br>Maximilians - Universität und an der<br>Technischen Universität München<br>18. Mai 1979 Ärztliche Prüfung<br>23. Mai 1979 Approbation als Arzt                                   |
| Berufliche<br>Tätigkeit | seit 11. Juni 1979 als Assistenzarzt an<br>der Abteilung für Anästhesie und opera-<br>tive Intensivmedizin im städt. Kranken-<br>haus München - Schwabing<br>28. März 1984 Facharztprüfung,<br>seitdem Arzt für Anästhesie |
| Familienstand           | seit 17. Mai 1980 verheiratet, 2 Kinder                                                                                                                                                                                    |













